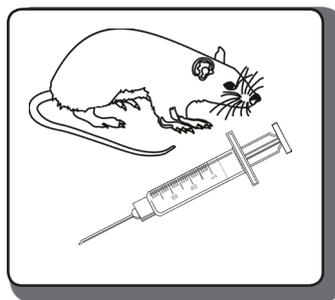


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.018.3:(612.82)-092.9:599.323.4

Б.Я. Рыжавский, О.В. Демидова, Е.М. Литвинцева, О.В. Ткач

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СТЕРОИДОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК МОЗГА, ПРОДУЦИРУЮЩИХ СТЕРОИДЫ, И КЛЕТОК ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ

*Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

Проведено сопоставление активности 3β -гидроксистероиддегидрогеназы в клетках головного мозга (нейронах неокортекса, гиппокампа, мозжечка, эпендимоцитах) с активностью фермента в клетках коры надпочечников и гонад. Установлено, что минимальная активность была присуща нейронам неокортекса, максимальная – клеткам коры мозжечка и эпендимоцитам желудочков мозга. Интенсивность реакции в клетках Пуркинье и эпендимоцитах сосудистых сплетений желудочков мозга была близкой к активности в эндокриноцитах исследованных желез.

Ключевые слова: нейростероиды, мозг, надпочечники, гонады.

B.Ya. Ryzhavskii, O.V. Demidova, E.M. Litvintseva, O.V. Tkach

COMPARATIVE ASSESSMENT OF STEROIDOGENIC ACTIVITY OF THE BRAIN CELLS, PRODUCING STEROIDS, AND THE CELLS OF ENDOCRINE GLANDS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

We have compared the activity of 3β -hydroxysteroid dehydrogenase in the brain cells (neurons of the neocortex, hippocampus, cerebellum, ependymal cells) with the activity of the enzyme in the cells of the adrenal cortex and gonads. It was found out that neurons of neocortex had minimum activity and cells of cerebellar cortex and ependymal cells of the brain ventricles had maximum activity. The intensity of the reaction in the Purkinje's cells and ependymal cells of the choroid plexus of the ventricles of the brain was similar to the activity of the endocrine cells in the examined glands.

Key words: neurosteroids, brain, adrenal glands, gonads.

Развитие и состояние головного мозга регулируются многими факторами, среди которых важное место принадлежит стероидным гормонам – кортикостероидам, андрогенам, эстрогенам, гестагенам, продуцируемым корой надпочечников, гонадами, плацентой [1, 5, 11]. В последние десятилетия получены данные о способности нейронов и глиоцитов мозга синтезировать стероидные гормоны – нейростероиды [6-10, 13, 14, 16], которые позволяют предполагать, что изменения интенсивности их синтеза могут оказывать влияние на свойства мозга, а также быть одним из элементов адаптации мозга к повышению и снижению уровня стероидных гормонов в крови.

К нейростероидам обычно относят прогестерон, дегидроэпиандростерон, дегидроэпиандростерон сульфат, андростендион и прегненолон и их сульфатированные и липидные производные, тетрагидрометабо-

литы прогестерона, эстрадиол, тестостерон [10, 12]. Они синтезируются *de novo* в клетках головного мозга из холестерина с участием ряда ферментов, отвечающих за преобразование различных химических групп. Ключевым ферментом стероидогенеза в нейронах является 3β -гидроксистероиддегидрогеназа (ГСДГ). Он катализирует образование прогестерона, который регулирует важные стороны функционирования мозга, а также служит предшественником в синтезе эстрогенов, андрогенов, кортикостероидов [5, 13-15]. В наших исследованиях методами гистохимии было установлено, что активность ГСДГ выявляется в некоторых нейронах неокортекса, гиппокампа, коры мозжечка (клетках Пуркинье), а также эпендимоцитах выстилки боковых и третьего желудочков и ворсинок их сосудистых сплетений. При этом было показано, что активность фермента неодинакова в различных нейронах и глиоцитах

[6, 7, 9]. Параллельно с этим нами при использовании тех же методик изучалась активность ГСДГ в клетках, являющихся «классическими» продуцентами стероидных гормонов – адренокортикоцитах надпочечников, текоцитах овариальных фолликулов, клетках Лейдига семенников [8].

Данные литературы свидетельствуют о том, что в разных отделах мозга концентрация тестостерона, эстрадиола не одинакова, отличается от их концентрации в плазме крови. При этом в условиях экспериментальных воздействий изменения содержания этих гормонов зависят от отдела мозга и может не совпадать с их изменениями в крови [10]. Эти данные показывают, что нейростероиды, вырабатываемые в мозге вносят существенный вклад в уровень стероидных гормонов в органе и его регуляцию.

В связи с этим, в настоящей работе проведено сопоставление активности ГСДГ в эндокриноцитах надпочечников и гонад, с одной стороны, и клетках мозга, продуцирующих нейростероиды с другой. Мы полагаем, что такая информация будет полезной для определения вклада перечисленных клеток в определение уровня стероидных гормонов в головном мозге и его различных отделах.

Материалы и методы

В работе проведено суммирование результатов количественного изучения ГСДГ, полученных ранее [6-9], и сравнение активности ГСДГ в стероидпродуцирующих клетках неокортекса, гиппокампа, мозжечка (клетки Пуркинье), эпендимоцитах выстилки и ворсинок сплетений боковых желудочков и 3-го желудочка мозга, а также клетках Лейдига семенников, текоцитах полостных овариальных фолликулов, адренокортикоцитах взрослых крыс. Исследованные интактные животные использовались в качестве контрольных в проводившихся в лаборатории экспериментах, содержались в условиях, соответствующих «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Все исследования проводились согласно принципам, изложенным в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Количество животных в каждой из одновременно исследованных групп было не менее 5. Животных декапитировали, извлекали головной мозг, надпочечники, гонады. Готовили криостатные срезы толщиной 20-40 мкм, которые монтировали на покровных стеклах, наносили инкубационный раствор для выявления ГСДГ [2] и инкубировали 30 мин. при 37 °С. Количественную оценку активности фермента проводили на основании цитоспектрофотометрии ($\lambda=550$ нм) срезов толщиной 20 мкм на аппарате МЕКОС. В каждом случае в каждой исследуемой разновидности клеток измеряли активность не менее чем в 25 клетках. При этом условия проведения реакции и ее оценка были максимально стандартизированы. Количественные данные обрабатывали при помощи программы Statistica 6.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствовали о том, что активность ГСДГ в исследованных клетках головного

мозга имела существенные различия. Ее минимальный уровень характеризовал нейроны неокортекса ($0,203\pm 0,006$ усл. ед.). При этом положительная реакция наблюдалась в небольшом числе нейронов (рис. 1). Активность фермента в нейронах гиппокампа была близкой к таковой в нейронах неокортекса ($0,237\pm 0,014$ усл. ед.), однако здесь положительная реакция выявлялась во всех или почти во всех нейронах (рис. 2). В клетках Пуркинье (рис. 3) активность ГСДГ была значительно и достоверно более высокой, чем в нейронах коры мозга ($0,717\pm 37$ усл. ед.). Эти данные о высокой активности фермента в клетках Пуркинье согласуются с данными, полученными биохимическими методами [16]. Можно полагать, что паракринная секреция перечисленных клеток может определять локальные различия концентрации стероидных гормонов в мозге [10].

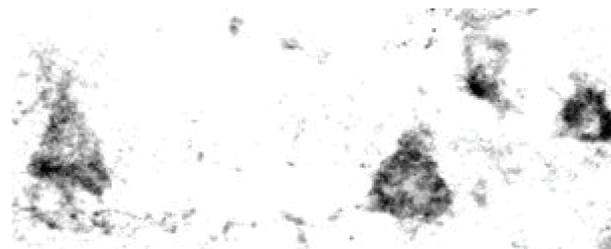


Рис. 1. Нейроны слоя V неокортекса. Реакция на ГСДГ

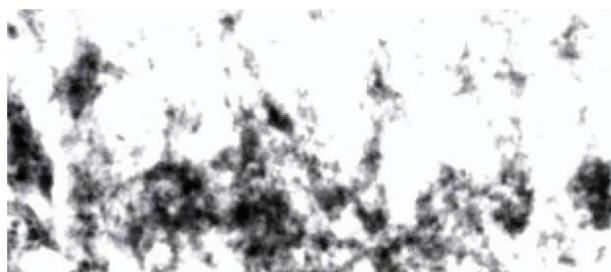


Рис. 2. Нейроны гиппокампа. Реакция на ГСДГ

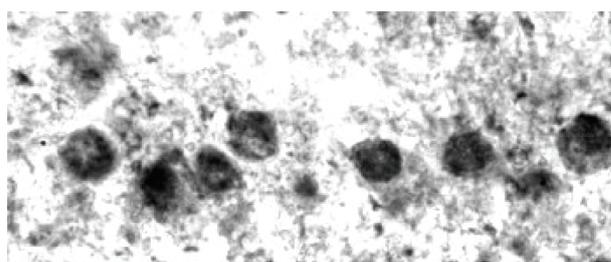


Рис. 3. Нейроны коры мозжечка (клетки Пуркинье). Реакция на ГСДГ

Исследование ГСДГ в эпендиме желудочков мозга показало, что как клетки их выстилки, так и особенно клетки, покрывающие ворсинки, имеют высокий уровень активности фермента (рис. 4) ($0,400\pm 0,06$ и $0,52\pm 0,04$ усл. ед. соответственно). Можно полагать, что продуцируемые ими стероиды попадают в вещество мозга как из ликвора [3, 4], так и выделяясь через базальный полюс. При этом следует отметить, что эпендимоциты являются многочисленными клетками, занимающими значительный объем.

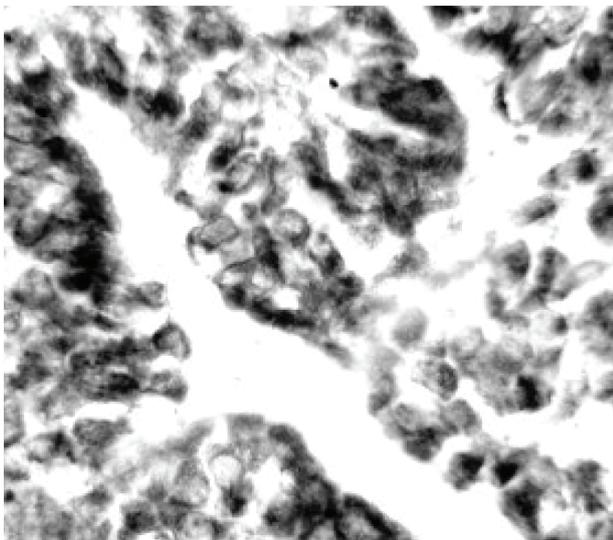


Рис. 4. Эпендимциты бокового желудочка мозга.
Реакция на ГСДГ



Рис. 5. Клетки Лейдига семенника. Реакция на ГСДГ

Изучение ГСДГ в и клетках Лейдига, теоцитах, адренокортикоцитах (рис. 5, 6) показало, что их активность является близкой по величине. В клетках пучковой зоны коры надпочечников она составила $0,560 \pm 46$ усл. ед., в клетках Лейдига семенников – $0,603 \pm 0,027$ усл. ед., в теоцитах вторичных овариальных фолликулов – $0,558 \pm 0,09$ усл. ед. Эти данные свидетельствуют, что активность ГСДГ в исследованных эндокриноцитах значительно выше, чем в нейронах неокортекса и гиппокампа и близка к таковой в клетках Пуркинье и эпендимocyтaх ворсинок. Эти результаты свидетельствуют о том, что ряд клеток мозга может продуцировать стероидные гормоны с интенсивностью, наблюдаемой в клетках эндокринных желез. Они показывают также, что особенности строения эндокринных клеток коры надпочечников и гонад (тубуло-везикулярные кристы митохондрий, развитый гладкий эндоплазматический ретикулум, высокое содержание липидов) не являются абсолютно необходимыми для синтеза стероидных гормонов.

Таким образом, в целом вышеизложенные данные позволяют, по нашему мнению, предполагать, что «суммарный вклад» клеток головного мозга, продуцирующих нейростероиды, в общую массу стероидных гормонов в этом органе является значительным и сопоставимым с вкладом эндокринных желез, секретирующих данные гормоны.

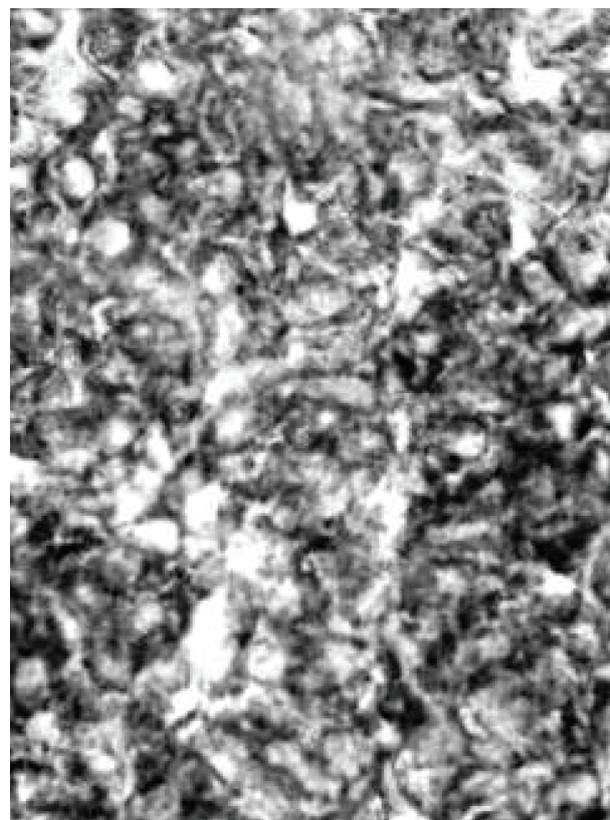


Рис. 6. Адренокортикоциты пучковой зоны. Реакция на ГСДГ

Литература

1. Жуковский, М.А. Детская эндокринология : руководство для врачей. – М.: Медицина, 1995. – 656 с.
2. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. – М.: Мир, 1982. – 272 с.
3. Отеллин В.А., Хожай Л.И. Формирование неокортекса у крыс после пренатальной гипоксии // Морфология. – 2002. – Т. 122, № 5. – С. 34-38.
4. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Гилерович Е.Г. и др. Повреждающие воздействия в критические периоды пренатального онтогенеза как фактор, модифицирующий структурное развитие головного мозга и поведенческие реакции после рождения // Вестник РАМН. – 2002. – № 12. – С. 32-35.
5. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Изд-во Московского ун-та, 1994. – 383 с.
6. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. 3β -гидроксистероиддегидрогеназа в эпендимocyтaх выстилки боковых желудочков мозга и ворсинках сосудистого сплетения крыс различного возраста // Морфология. – 2012. – Т. 142, № 5. – С. 26-28.
7. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. Влияние гонадэктомии на активность 3β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах некоторых отделов головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 6. – С. 748-750.
8. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3β -гидроксис-

тероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга крыс разного пола // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 86-88.

9. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учакина Р.В. Влияние воспитания крысят в искусственно сформированных пометах на показатели развития их мозга, надпочечников и гонад // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 150. – № 8. – С. 216-222.

10. Сашков В.А., Сельверова Н.Б., Моренков Э.Д., Ермакова И.В. Уровень нейроактивных стероидов в мозге и половые различия формирования и угашения условного рефлекса у крыс // Российский физиологический журнал. – 2012. – № 3. – С. 212-220.

11. De Kloet E.K. Hormones, Brain and Stress // Endocrine Regulations. – 2003. – Vol. 37. – P. 51.

12. Dubrovsky B.O. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology // Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry. – 2005. – Vol. 29, № 2. – P. 169-192.

13. Mellon S.H., Griffin L.D., Compagnone N.A. Biosynthesis and action of neurosteroids // Brain Res Rev. – 2001. – Vol. 37, № 1-3. – P. 3-12.

14. Mellon S.H. Neurosteroid regulation of central nervous system development // Pharmacol Ther. – 2007. – Vol. 116, № 1. – P. 107-124.

15. Sakamoto H., Ukena K., Katawa M., Tsutsui K. Expression, localization and possible actions of 25-Dx, a membrane-associated putative progesterone-binding protein, in the developing Purkinje cell of the cerebellum: a new insight into the biosynthesis, metabolism and multiple actions of progesterone as a neurosteroid // Cerebellum. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 18-25.

16. Tsutsui K., Sakamoto H., Ukena K. Biosynthesis and action of neurosteroids in the cerebellar Purkinje neuron // J Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2009. – Vol. 85, № 2-5. – P. 311-321.

Literature

1. Zhukovskiy M.A. Pediatric endocrinology: guidance for physicians. – M.: Medicine, 1995 – P. 656.

2. Loida Z. Gossrau P. Shibley T. Histochemistry of enzymes. Laboratory techniques. – M.: Mir, 1982. – P. 272.

3. Otellin V.A., Khozhai L.I. Neocortex formation in rats after perinatal hypoxia // Morphology. – 2002. – Vol. 122, № 5. – P. 34-38.

4. Otellin V.A., Khozhai L.O., Gilerivich E.G., et al. Noci-influence in critical periods of perinatal ontogenesis as a factor that modifies structural development of the brain and behavioral responses after birth // RAMS journal. – 2002. – № 12. – P. 32-35.

5. Rozen V.B. Basics of endocrinology. – M.: Moscow university publishing house, 1994. – P. 383.

6. Ryzhavskaia B.Ya., Zadornaya O.V. 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in ependymocytes layer of the lateral ventricles and vascular plexus villi of rats differing in age // Morphology. – 2012. – Vol. 142, № 5. – P. 26-28.

7. Ryzhavskaia B.Ya., Zadornaya O.V. Influence of gonadectomy on the 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase strength in neurons of different parts of brain // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2012. – Vol. 153. – № 6. – P. 748-750.

8. Ryzhavskaia B.Ya., Zadornaya O.V., Litvintseva E.M. Histochemical influence of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in neurons of rats differing in age // Far Eastern medical journal. – 2011. – № 1. – P. 86-88.

9. Ryzhavskaia B.Ya., Litvintseva E.M., Uchakina R.V. Influence of nurturing infant rats in artificially formed brood on the developmental quotient of their brain, supra-

renal glands and gonads // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2010. – Vol. 150. – № 8. – P. 216-222.

10. Sashkov V.A., Selverova N.B., Moronkov E.D., Ermakova I.V. Levels of neuroactive steroids in brain and sexual dimorphism of formation and reflex reserve in rats // Russian physiological journal. – 2012. – № 3. – P. 212-220.

11. De Kloet E.K. Hormones, Brain and Stress // Endocrine Regulations. – 2003. – Vol. 37. – P. 51.

12. Dubrovsky B.O. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology // Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry. – 2005. – Vol. 29, № 2. – P. 169-192.

13. Mellon S.H., Griffin L.D., Compagnone N.A. Biosynthesis and action of neurosteroids // Brain Res Rev. – 2001. – Vol. 37, № 1-3. – P. 3-12.

14. Mellon S.H. Neurosteroid regulation of central nervous system development // Pharmacol Ther. – 2007. – Vol. 116, № 1. – P. 107-124.

15. Sakamoto H., Ukena K., Katawa M., Tsutsui K. Expression, localization and possible actions of 25-Dx, a membrane-associated putative progesterone-binding protein, in the developing Purkinje cell of the cerebellum: a new insight into the biosynthesis, metabolism and multiple actions of progesterone as a neurosteroid // Cerebellum. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 18-25.

16. Tsutsui K., Sakamoto H., Ukena K. Biosynthesis and action of neurosteroids in the cerebellar Purkinje neuron // J Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2009. – Vol. 85, № 2-5. – P. 311-321.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96; Демидова Ольга Викторовна – канд. биол. наук, доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ДВГМУ; Литвинцева Екатерина Марковна – канд. биол. наук, доцент кафедры химии ДВГМУ; Ткач Ольга Владимировна – аспирант кафедры биологии и гистологии ДВГМУ.

